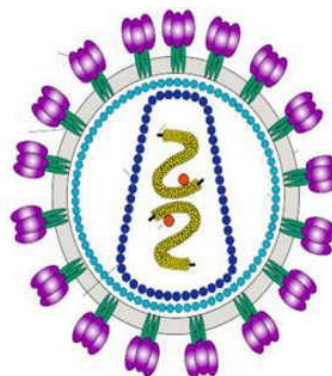


Maria de Fátima Pinto Monteiro

O laboratório de biologia molecular no diagnóstico e acompanhamento da infecção pelo VIH-2



Vila Nova de Gaia

2015

O presente trabalho destina-se a instruir o processo para admissão às provas públicas para obtenção do Título de Especialista em Análises Clínicas e Saúde Pública, pelo Instituto Politécnico do Porto, segundo emanado no Decreto-lei n.º 206/2009 de 31 de agosto e Despacho n.º IPP/P-068/201

Agradecimentos

Agradeço à Professora Manuela Amorim pelo encorajamento, disponibilidade, pela pertinência das suas críticas e sugestões, pela partilha de saberes e acima de tudo pela paciência, apoio e amizade demonstrado na execução deste trabalho.

Agradeço ao Professor Doutor Fernando Araújo por me ter proporcionado a oportunidade de realizar este trabalho e por me dar o privilégio de partilhar comigo todo o seu conhecimento, encorajamento e profissionalismo.

Agradeço a todos os técnicos de análises clínicas e saúde pública, Dr Gilberto Tavares, Dr^a Marina Ferreira, Dr^a Ana Amorim, Dr Pedro Bastos, Dr^a Dina Hortelão e Dr^a Carolina Rocha que trabalham no Centro de Biologia Molecular do Hospital de S. João pelo seu profissionalismo e excelente trabalho de equipa, sem os quais seria impossível a realização deste trabalho.

Agradeço às docentes da área científica de análises clínicas e saúde pública da ESTSP pelo companheirismo e ajuda prestada, principalmente à docente Dr^a Anabela Moreira. Agradeço também a todos os alunos que executaram os seus projetos de licenciatura em diversas áreas, nomeadamente, licenciatura em análises clínicas e saúde pública e licenciatura em bioquímica que direta ou indiretamente ajudaram na análise de dados estatísticos deste trabalho.

Agradeço aos médicos de doenças infecciosas nomeadamente à Dra. Rosário Serrão e Carmela Pinero pela colaboração e partilha de preocupações e necessidades que sentem no acompanhamento clínico dos doentes infetados pelo VIH-2 sendo fundamental para que o laboratório desenvolva um trabalho útil.

Agradeço à minha família, marido e filhas, por todo o apoio incondicional nos momentos de cansaço.

Lista de siglas e abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNc	ADN complementar
°C	Grau Celsius
CCR5	Recetor de quimiocinas da classe CC do inglês, <i>CC chemokine receptor</i>
CD4	Recetor celular, do inglês <i>cluster of differentiation type 4</i>
CHSJ	Centro Hospitalar São João, EPE
CRF	Forma recombinante circulante, do inglês <i>circulating recombinant form</i>
CXCR4	Recetor de quimiocinas da classe CXC do inglês <i>CXC chemokine receptor 4</i>
dsADN	DNA de cadeia dupla
dNTPs	Desoxirribonucleótidos 5'-trifosfatados
DRV	Darunavir
Env	Gene codificante das glicoproteínas do invólucro do HIV, do inglês <i>envelope</i>
EVG	Elvitegravir
FPV	Fosamprenavir
gag	Gene codificante das proteínas da estrutura interna do HIV, do inglês <i>group specific antigen</i>
gp	Glicoproteína
HAART	Terapêutica antirretroviral de alta eficácia, do inglês <i>highly active antiretroviral therapy</i>
IDV	Darunavir
INT	Integrase
IINTs	Inibidores da integrase
INNTRs	Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa
INTRs	Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa
IPs	Inibidores da protease
LPV	Lopinavir
LTR	Regiões repetitivas terminais longas do genoma proviral do HIV, do inglês <i>long terminal repeats</i>
nef	Gene acessório do HIV, do inglês <i>negative factor</i>
ng	Nanogramas
pb	Pares de bases
Pc	Paciente
PCR	Reacção em cadeia da polimerase, do inglês <i>polymerase chain reaction</i>

Lista de siglas e abreviaturas (cont)

<i>pol</i>	Gene codificante das proteínas enzimáticas do HIV do inglês <i>polymerase</i>
PR	Protease
RAL	Raltegravir
<i>rev</i>	Gene regulador do HIV do inglês <i>regulator of virion gene expression</i>
RNA_m	Ácido ribonucleico mensageiro
RT-PCR	Reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
SQV	Saquinavir
<i>ssDNA</i>	DNA de cadeia simples, do inglês <i>single - stranded DNA viroses</i>
<i>ssRNA</i>	RNA de cadeia simples, do inglês <i>single-stranded RNA viruses</i>
<i>tat</i>	Gene regulador do HIV, do inglês <i>transactivator of gene expression</i>
TBE	Tris/Borato/EDTA
TPV	Tipranavir
TR	Transcritase reversa
<i>vif</i>	Gene acessório do HIV, do inglês <i>viral infectivity factor</i>
VIH	Vírus da imunodeficiência humana
<i>vpr</i>	Gene acessório do HIV, do inglês <i>viral protein R</i>
<i>vpu</i>	Gene acessório do HIV, do inglês <i>viral protein U</i>
<i>vpx</i>	Gene acessório do HIV, do inglês <i>viral protein X</i>
μ	Micro (prefixo que designa 10 ⁻⁶)
μM	Micromolar

Resumo

O VIH-2 é o segundo agente etiológico da SIDA no mundo, logo após o VIH-1, encontrando-se sobretudo confinado à África Ocidental. A infeção pelo VIH-2 possui também alguma relevância em países Europeus que mantêm relações socioeconómicas com esta região. A infeção pelo VIH-2 caracteriza-se por uma progressão lenta para SIDA devido à reduzida taxa de replicação do vírus. A terapia contra o VIH-1 e VIH-2 foca-se principalmente na interrupção da replicação do vírus. Os principais alvos terapêuticos têm sido as enzimas virais, tais como transcriptase inversa(TR), protease(PR) e integrase(INT). Estas enzimas são codificadas pelo gene *pol* e são essenciais para o ciclo de replicação dos retrovírus.

Este trabalho tem como objectivo principal demonstrar a experiência do centro de Biologia Molecular no diagnóstico e monitorização dos doentes infetados por VIH-2 na região Norte. O Centro de Biologia Molecular (CBM) está integrado no Serviço de Imunohemoterapia no Centro Hospitalar São João, sendo um dos hospitais referência no tratamento destes doentes em Portugal.

Em 2003, o CBM implementa a realização da quantificação da virémia por PCR em tempo real ,método “in house”, na rotina laboratorial à semelhança do que era recomendado para os doentes infectados por VIH-1.Em 2014 implementa o teste genotípico de resistência aos fármacos antirretrovirais para a PR/TR e o teste genotípico de resistência aos fármacos antirretrovirais para a INT por sequenciação, na rotina laboratorial à semelhança do que era recomendado para os doentes infetados por VIH-1.

A implementação destes testes permitiram a caracterização dos doentes infetados pelo VIH-2 e permite aos clínicos de doenças infecciosas que acompanham estes doentes, o conhecimento das resistências genotípicas detetadas bem como a possibilidade de adotar esquemas terapêuticos mais eficazes .No entanto os clínicos foram confrontados com a existência de doentes portadores de VIH-2 multiresistentes às 3 classes de antiretroviricos mais

frequentemente utilizados (Inibidores da Protease, Inibidores da transcriptase reversa nucleosídeos e não nucleosídeos e inibidores da integrase).

Em 2015, o centro implementou o teste genotípico para a determinação do tropismo do VIH-2 para permitir aos clínicos a possibilidade da utilização dos antagonistas do co-recetor CCR5.

Conscientes da constante necessidade de melhorar a resposta no controlo da infeção por VIH-2, a equipa do CBM está atenta e sempre disponível para colaborar com os clínicos do serviço de infeções.

A finalidade desta colaboração é a melhoria contínua na prestação de cuidados de saúde aos doentes infetados pelo VIH-2 similares aos cuidados que são prestados aos doentes infetados pelo VIH-1.

Palavras-chave: Infeção VIH-2, Carga viral, Testes genotípicos aos antirretroviricos, Tropismo Viral.

